

MILJENKO BULJAN

## QUELQUES INVESTIGATIONS PHYSIOLOGIQUES SUR LA NUTRITION DE LA CHARA

Cet ouvrage a déjà paru, il y a six ans, sous un titre analogue, en langue croate, dans une version plus longue et sans résumé en français<sup>1</sup>, par conséquent, non accessible aux naturalistes étrangers que ces questions pourraient intéresser.

Pour cette raison, et encouragé par le Professeur Vouk, de l'Université de Zagreb, je fais paraître ici un résumé de la partie physiologiques de ma thèse. Je souligne de nouveau que ceci n'est qu'un fragment très restreint d'un ouvrage plus important, comportant, naturellement, les défauts d'un résumé. Pour toute la partie expérimentale de mes travaux, le Professeur Vouk a eu l'obligeance de mettre à ma disposition le Laboratoire physiologique de l'Institut botanique de l'Université de Zagreb, et de m'aider, avec la plus grande bienveillance, de ses conseils éclairés, ce dont je le remercie en cette occasion.

Le but de ces travaux était d'apporter plus de lumière dans les questions de nutrition de ces groupes isolés d'algues, qui furent tant de fois l'objet de recherches cytologiques pour leurs grandes cellules internodiales, et leurs rhizoïdes, mais furent très peu étudiées au point de vue physiologique.

Voici ma façon de procéder: tout d'abord, j'ai cherché un mélange nutritif favorable au bon développement de la *Chara*, ensuite, j'ai expérimenté divers facteurs chimiques, en étudiant chaque fois les réactions de la plante envers eux.

Dès le début, je me heurtai à des difficultés, car la *Chara* n'avait pu s'adapter à aucun des mélanges »normaux« recommandés par divers auteurs et dans lesquels j'ai essayé de cultiver cette algue.

---

<sup>1</sup> M. Buljan: Fiziološka istraživanja hranidbe parožina (*Chara*). Doktorska disertacija, Zagreb 1942., 80 pages, 16 fig, 34 tables, 5 diagrammes, 7 graphiques.

## Méthodes

Mes expériences ont porté la plupart sur la *Chara fragilis*, sauf dans les cas d'expérimentation de l'action du sublimé du mercure, où je me suis servi de la *Chara foetida*.

J'ai retiré des aquariums »pépinières« des boutures de même taille, formées de 3 ou 4 noeuds et d'un bourgeon au sommet, et je les ai transplantées dans des aquariums de verre d'une contenance respective de 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> l et de 4 litres.

Pour faire prendre racine à la plante, je lui ai fourni, suivant les besoins, de la vase, de la terre de jardin, du sable siliceux, du sable dolomitique, ou bien je la laissais reposer librement au fond du récipient.

Comme milieu nutritif, j'ai essayé divers mélanges de ma composition, dans l'eau distillée ou bien de l'eau de source avec addition de sels variés, ou enfin les mélanges nutritifs de divers auteurs. Dans les récipients de contrôle je tenais toujours de l'eau de source.

Afin d'éliminer les épiphytes, on a masqué les aquariums à l'aide de gros papier noir, ce qui donna de bons résultats. Dans le même but, nous avons essayé avant de les transplanter, de préparer les boutures dans une solution de sublimé à des concentrations diverses, mais sans succès.

Au cours des expériences, les cultures les plus remarquables ont été photographiées, pour faciliter, en plus des données obtenues par la pesée des matières sèches, la comparaison des résultats. Ces photographies se trouvent dans le livre original. A la fin des expériences, les plantes ont été sorties de leur milieu nourricier, séchées au grand air et pesées. Pour chaque série d'expériences un récipient contenant des plantes dans les conditions normales servait de contrôle et de point de repère.

Pour une partie des expériences, les concentrations d'ions d'hydrogène ont été déterminées par la méthode électrométriques avec l'acidimètre, de Trenèl.

D'autre part, je me suis efforcé d'obtenir des préparations aussi pures que possible par l'emploi de substances chimiques telles que le sel »purissimum« et »pro analysi« d'origine Merck, Riedel ou Kahlbaum que j'ai employé le plus que j'ai pu.

Nous avons d'abord essayé de cultiver la *Chara* successivement dans les mélanges\*) nutritifs de Detmer, Crone,

---

\* Mélange nutritif, cette expression est empruntée à Zinzadze Ch. R. qui pense que le mot »mélange« convient mieux que le mot »solution«, car dans la plupart de ces solutions »normales« se forme toujours un dépôt de phosphate de calcium non dissout. Cette expression me paraît juste, et je l'ai adoptée.

Beyerinck, Artari, Pringsheim et Benecké, mais sans succès, car ils se sont tous montrés très impropres à la culture de cette algue, sauf celui de Crone, dans lequel la plante a réussi à végéter. C'est pourquoi ce dernier mélange a retenu mon attention et je l'ai employé, en lui faisant subir quelques modifications, afin de le rapprocher le plus possible de la composition de l'eau de source dans laquelle, naturellement, la *Chara* réussit. Je me suis donc efforcé d'y diminuer la quantité d'azote et d'y augmenter le CO<sub>2</sub> libre ou combiné. Ainsi, me servant du mélange Crone, j'ai fait trois combinaisons différents (v. t. N<sup>o</sup> 1). Et en effet, l'emploi de la combinaison I. provoqua une amélioration dans l'état de la plante.

TABLE I.

	c o m b i n a i s o n s		
	I.	II.	III.
KNO <sub>3</sub>	0,25	0,05	0,05
MgSO <sub>4</sub>	0,5	0,05	0,05
CaSO <sub>4</sub>	0,5	—	—
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	0,25	0,25	0,25
Fe <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	0,25	0,25	0,25
NaCl	0,10	0,10	0,10
KHCO <sub>3</sub>	0,25	—	—
CaCO <sub>3</sub>	—	1,00	0,5
CO <sub>2</sub> libre	—	—	—
H <sub>2</sub> O	1000,0	1000,0	1000,0

Cette combinaison subit encore cinq nouvelles variations par modification de sa teneur en NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup>, CO<sub>3</sub><sup>==</sup>, toujours en vue de nous rapprocher le plus possible de la composition de l'eau de source (v. t. N<sup>o</sup> II). Cette fois-ci, la première variation s'est montrée la mieux appropriée, et nous a servi à poursuivre toute une série d'expériences, en lui ajoutant toutefois diverses matières organiques et anorganiques. Ces additions ont été souvent assez heureuses, ce qui est prouvé par l'apparition de rhizoïdes d'une assez belle croissance.

J'ai fait dans les mêmes conditions deux autres séries d'expériences en additionnant au mélange des matières diverses.

TABLE II.

	variation				
	I.	II.	III.	IV.	V.
KNO <sub>3</sub>	0,10	0,25	0,25	0,25	0,10
MgSO <sub>4</sub>	0,50	—	0,50	0,50	0,25
MgCO <sub>3</sub> · 3H <sub>2</sub> O	—	0,50	—	—	0,25
CaSO <sub>4</sub>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Fe <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
KHCO <sub>3</sub>	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
CaCO <sub>3</sub>	—	—	0,25	0,50	0,25
NaCl	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
H <sub>2</sub> O	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0

En vertu de l'expérience acquise, j'ai jugé nécessaire de faire subir à la meilleure variation des mélanges, obtenue jusqu'à ce jour, des modifications ultérieures, de quatre façons différentes, comme il ressort de la tab. N<sup>o</sup> III.

La 3<sup>ème</sup> variation ultérieure (t, N<sup>o</sup> III) a donné les meilleures résultats au cours de tous ces travaux.

TABLE III.

	variations ultérieures			
	I.	II.	III.	IV.
KNO <sub>3</sub>	0,007	0,007	0,007	0,007
MgSO <sub>4</sub>	0,35	0,35	0,35	0,35
CaSO <sub>4</sub> · 2 aq	0,12	—	0,12	0,12
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	0,12	0,12	0,12	0,12
KHCO <sub>3</sub>	0,12	0,12	0,12	0,12
NaCl	0,05	0,05	0,05	0,05
CaCO <sub>3</sub>	0,23	0,23	0,23	0,23
Fe citrat	0,002	0,002	0,002	0,002
K <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	0,04	0,04	0,04	0,04
NaHCO <sub>3</sub>	—	—	0,1	0,1
MnCl <sub>2</sub> · 4 aq	—	—	0,04	—
H <sub>2</sub> O	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0

Pour finir, dans la 10e série d'expériences, j'ai ajouté divers éléments catalytiques, tout simplement à de l'eau de source.

En outre, j'ai étudié l'action de  $HgCl_2$  sur la *Chara*, modifiant les concentrations, ainsi que la durée de l'action sur la plante.

### Elaboration des résultats

Tous les facteurs qui ont été alternativement mis en action au cours de ces travaux peuvent se réduire à trois groupes.

1<sup>o</sup>) facteurs agissant sur la nutrition (éléments plastiques)

2<sup>o</sup>) facteurs agissant par excitation (éléments catalytiques)

3<sup>o</sup>) facteurs physico-chimiques.

Facteurs ayant un effet nutritif.

$NH_4$ :

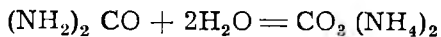
Les végétaux supérieurs donnent la préférence à l'azote nitrique, tandis que beaucoup de cryptogames utilisent plus volontiers l'azote ammoniacal, sous forme de sels ammoniacaux, et l'azote organique.

Le choix de la forme de l'azote utilisé, dépend également de pH du milieu nutritif donné. D'après Prijanišnikov et Kuznecov  $NH_4$  est un meilleur engrais dans une réaction neutre, tandis que, dans une réaction acide,  $NO_3$  est préférable aux sels ammoniacaux,

Les algues tolèrent parfaitement les sels ammoniacaux, et même, certains mélanges «normaux» de culture de l'algue en renferment, tels que les mélanges de Beyrinck, Artari, Pringsheim et autres. Mais, quand j'ai voulu expérimenter l'effet de ces mélanges sur la *Chara*, j'ai constaté que cette plante ne les tolérait pas. Plus tard, au cours de ma 6e série, en utilisant le mélange de ma fabrication, 1<sup>ère</sup> variation, j'ai expérimenté l'action du  $NH_4Cl$  et j'ai été amené à en conclure que *cette plante (la Chara) ne supporte pas les sels ammoniacaux et que ceux-ci agissent sur elle comme de véritables poisons, tout au moins en concentrations supérieures à 0,003% calculé comme le  $NH_4Cl$ .*

Carbamide :

L'azote, sous forme de carbamide, agit à peu-près de la même façon sur la *Chara*, peut-être par suite de la facilité avec laquelle le carbamide se transforme en carbonate d'ammonium, d'après l'équation:



mais l'effet du carbamide est plus pernicieux encore, car même en concentration minimale de 0,0003%, il provoque la mort de la plante.

### Nitrates :

De bonne heure, j'ai pu me persuader que la dose de nitrate fixée par divers auteurs, pour leurs mélanges, est trop élevée pour la *Chara*. Tous les mélanges de D e t m e r, B e n e c k e, K n o p, T o l l e n s et M a z é renferment plus de 0,03 gr. de sels nitriques par litre d'eau. Aussi ai-je tenté, dans la série 10, d'expérimenter avec des nitrates, dans des concentrations différentes et j'ai constaté que, plus la concentration augmentait, plus la récolte diminuait. *La plus faible concentration employée a été de 0,0008% NO<sub>3</sub>, et c'est celle-là qui a donné les meilleurs résultats.*

Si les nitrates sont la seule forme d'azote acceptée par la *Chara*, ce qui paraît très vraisemblable, étant donnée la répulsion de cette plante pour les sels ammoniacaux, nous pouvons donc conclure, que ses besoins, en azote, sont très modestes.

Je pense que l'on doit abandonner l'idée que la *Chara* absorbe l'azote qui se trouve dans la vase, sous forme de combinaisons organiques, c'est à dire qu'elle se comporte comme un organisme étérotrophe, car, pour ma part, j'ai réussi à cultiver la *Chara* de telle manière qu'elle a donné naissance à des noeuds nouveaux, à des ramifications et à des rhizoïdes touffus, dans un milieu totalement anorganique.

### Calcium :

La présence de cet élément est indispensable à la nutrition de la plupart des végétaux, qui l'utilisent pour équilibrer l'action des ions K' et Mg'' dans le processus de gonflement des membranes cellulaires (Loew).

Le calcium est un élément de solidification des membranes, par suite de sa combinaison avec les éléments pectiques et cellulosiques (J. Becker-Dillingen, Kufferrat H. et O. Richter).

On a cependant partout observé, que certaines algues inférieures se développent, même en son absence (V. G. Pringsheim). W. Migula et W. Stroede sont d'avis que chez la *Chara*, également, le Ca'' ne joue pas un rôle très important ou, tout au moins, que ce rôle est secondaire.

V. Vouk et F. Benzinger pensent le contraire. Les résultats de ma VIIIème série d'expérience, sont concluants à ce sujet: *la Chara périt dans un milieu dépourvu de calcium*, et ceci confirme l'opinion de Vouk et Benzinger qui affirment *que les sels de calcium sont des éléments indispensables à l'évolution de la Chara et à sa prospérité.*

### Bicarbonates :

Dans l'énumération des sels divers entrant dans la composition des mélanges »normaux« des divers auteurs, on ne rencontre jamais le bicarbonate, parce que les plantes autotrophes puisent à une autre source l'acide carbonique qui leur est nécessaire, et les plantes étérotrophes l'extraient de la partie organique du milieu de culture.

Vouk et Benzinger n'ont pas été sans remarquer l'action bienfaisante de l'addition de bicarbonate de calcium dans le milieu de culture de la *Chara*. Moi même, j'ai pu observer que cette plante, vivant dans son milieu naturel, est fortement incrustée de carbonate de calcium. Il se peut que les *Chara* n'ayant pas à leur disposition assez de  $\text{CO}_2$  libre, l'empruntent à ces combinaisons de bicarbonata à leur portée. C'est ainsi que j'avais expliqué les résultats obtenus par Vouk et Benzinger. Peut-être même que seule l'action favorable d'une partie de ce sel: Ca, peut expliquer l'excellence du résultat obtenu par ces auteurs.

Une troisième série d'essais fut consacrée à des expériences avec du  $\text{CO}_3$  d'origines diverse: du bicarbonate, du carbonate, et du  $\text{CO}_2$  libre. La plante a donné la préférence à la première forme d'acide carbonique, la deuxième forme a eu un effet moins heureux, et, en fin de compte, l'addition de  $\text{CO}_2$  gazeux lui a été nettement nuisible.

Il semble que pour la plante, le bicarbonate joue non seulement un rôle de véhicule du  $\text{CO}_2$ , mais aussi un rôle de tampon, faisant obstacle aux brusques changements de concentration de H'. Ceci pris en considération, ainsi que d'autres indices (tenant de l'eau de source en bicarbonate) *on peut conclure que la présence du bicarbonate est nécessaire dans les mélanges nutritifs destinés à la culture de la Chara.*

### Action des matières organiques :

Les difficultés que j'ai éprouvées à cultiver la *Chara* dans divers milieux nutritifs anorganiques, m'ont induit à penser, que ces plantes, pour leur bon développement, ont peut-être besoin de certaines substances organiques qui se rencontrent normalement dans la vase.

Déjà Niklewski B. et Wojcichevski I. avaient obtenu de bons résultats en donnant aux antophytes des substances de l'humus. Bottomley réussit presque aussi bien avec la Lemna, par le même procédé.

V. Vouk, lui aussi affirme de nouveau, que la *Chara* est d'une plus belle venue, si elle »prend racine« dans la vase plutôt

que dans le sable, et j'ai moi-même acquis la même certitude par mes nombreuses expériences effectuées au cours de ces travaux.

Cependant, la présence de certaines substances organiques, dans les cultures a été nettement défavorable, parmi celles-ci, je citerai le carbamide, la vitamine B<sub>1</sub>, le caramel, l'urine que j'ai expérimentées sans aucun succès.

J'ai essayé aussi d'employer les acides de l'humus en procédant de la manière suivante: je les ai extraits par la soude de la terre noire des étangs, et après les avoir précipitées par les acides minéraux, je les ai bien lavés à l'eau. Les préparations de ce genre ajoutées au milieu nutritif n'ont donné que de très médiocres résultats. Peut-être, parce que du fait de cet apport d'acides de l'humus, la solution des mélanges nutritifs prenait une teinte sombre qui privait la plante d'une partie de la lumière indispensable à son développement.

Peut-être aussi que d'après l'hypothèse de Lundegardt, une addition de faibles quantités d'acides de l'humus provoque chez la plante un ralentissement dans l'absorption de Ca<sup>++</sup>, qui, comme nous l'avons vu, joue un rôle important dans la nutrition de la *Chara*.

Ces données et quelques autres encore, nous prouvent que, pour la culture de la *Chara*, l'addition de préparations à base d'humus n'a pa été heureuse, dans les proportions de 0,3 gr. comme aussi de 1,3 gr. par litre de solution nutritive.

**Facteurs ayant un effet excitatif sur la matière (éléments catalytiques):**

**Fe:**

La présence de cet élément est indispensable au développement de nombreux organismes végétaux.

Cependant, dans les réactions déjà légèrement alcalines, les sels de fer deviennent insolubles, et se précipitent en un dépôt au fond du récipient.

D'après Stroede, dans les eaux naturelles, aux réactions presque neutres, on trouve 0,2 mg/l environ de Fe, et le surplus se dépose. Le manque de Fe provoque chez la plante des réactions malades, telles que la chlorose. On a remarqué au contraire, qu'en présence des matières organiques, la chlorose n'existe pas, ce qui peut s'expliquer par la formation de combinaisons complexes de fer, suffisamment solubles, même dans des concentrations relativement faibles de ions hydrogènes. L'acide citrique peut, d'après Vidal, servir pour ce but.



Pour me rendre compte si la carence en fer, ne serait pas une des causes du développement déféctueux de la *Chara*, j'ai expérimenté, parallèlement, l'action du Fe, sous forme de phosphate et de citrate. Les résultats de la 2ème série d'expériences ont démontré que l'addition de citrate et de phosphate de fer combinés, donne d'assez bons résultats, beaucoup meilleurs que ceux qui sont obtenus avec le phosphate seul.

An cours de quelques essais ultérieurs, j'ai complètement supprimé le phosphate de fer et je me suis contenté d'ajouter du citrate de Fe dans une proportion de 0,002% l. avec d'assez bons résultats, d'où l'on peut conclure *que le Fe peut être utilisé pour la culture de la Chara sous forme de citrate aussi bien, et même mieux, que sous forme de phosphate de Fe.*

### M a n g a n è s e.

Au cour de ma 5ème série d'expériences j'ai mis un peu de cendre de tabac dans certaines cultures, et je me suis aperçu que celle-ci, en faible proportion produit un bon effet. Plus tard, j'ai renouvelé cette expérience avec de la cendre de *Chara*, avec le même succès.

*Cette particularité m'a induit à conclure que la cause de l'action bienfaisante de la cendre n'est pas due à la présence d'éléments déjà représentés dans mes mélanges nutritifs, mais à celle d'autres substances, plus rares, existant dans la cendre, et n'étant pas, jusqu'à présent, entrées dans la composition de mes solutions.*

En dehors des autres éléments qui la composent, la cendre de tabac renferme 0,002% de Mn<sup>++</sup> (U. Spajić), c'est pourquoi, j'ai voulu en expérimenter les effets.

J'ai donc essayé du MnCl<sub>2</sub> . 4 aq, fortement dilué (0,0013% et 0,00013%) avec d'excellents résultats, confirmés par une expérience ultérieure.

L'action positive du Mn<sup>++</sup> ne s'est pas seulement révélée dans l'accroissement de la quantité de matière sèche, mais dans l'apparence florissante de la plante, dans une riche poussée de rhizoides, et dans une grande abondance de ramifications, tandis que celle-ci dépérissait dans les cultures de contrôle dépourvues de Mn<sup>++</sup>.

Il semble donc que la présence du Mn<sup>++</sup> favorise la formations des rhizoides et, par contre-coup, le développement général de la plante.

L'expérience acquise au cours de ces travaux, nous permet de conclure, que, désormais, *le Mn<sup>++</sup> devra entrer dans la compo-*

sition de n'importe quel mélange nutritif destiné à la culture de la Chara, et à un titre optimal de 0,003%, environ, calculé comme  $MnCl_2 \cdot 4 aq.$

Il semble que le rôle de  $Mn^{++}$  dans l'évolution de la Chara soit si prépondérant, que ce cas particulier puisse être considéré comme un des exemples de l'action des éléments catalytiques (éléments en traces), sur la croissance d'une plante. C'est donc, selon toute probabilité à la carence de cet élément dans les cultures artificielles de la Chara qu'il faut attribuer les insuccès qui ont caractérisé les expériences poursuivies jusqu'à ce jour.

Dans mon cas particulier, la présence du  $Mn^{++}$  dans la cendre de la Chara a été démontrée par la méthode Marshall.

### Z i n c

L'addition de se métal lourd a favorisé sur la Chara le développement des rhizoïdes. Cette action est résumée dans la table ci-dessous (V. T. IV.)

TABLE IV.

Concentration de $ZnCl_2$ p <sup>o</sup> / <sub>o</sub> dans le liquide nutritif	Rendement
0,00001	111,0
0,0001	92,2
0,001	33,2

Dans cette expérience, j'ai employé l'eau de source comme milieu nutritif et le sable dolomitique comme base (substratum). L'aquarium de contrôle, dans lequel je n'avais pas ajouté de zinc, fournit une récolte de 100,0.

*La concentration optimale de  $ZnCl_2$ , pour l'heureux développement de la plante, est donc de: 0,00001%, et peut-être même un peu plus faible encore. A ce titre-là, les plantes sont d'une belle venue et décèlent un accroissement de la matière sèche.*

Malheureusement, je ne suis pas arrivé à expérimenter l'addition de sels de zinc dans la composition de notre mélange nutritif définitif, destiné à la culture de la Chara, bien que,

tous les indices laissent supposer que sa valeur ne ferait qu'augmenter, du fait de l'addition de sel de zinc, en dilution optimale très élevée environ de 0,00001%  $ZnCl_2$ .

#### Bore:

De nombreux auteurs se sont intéressés au rôle du bore dans la nutrition de divers végétaux (Bobko et ses col., Schmidt, Katalimov, Abaturon et autres) et l'effet favorable de ce corps, employé fortement dilué dans les solutions nutritives.

Personnellement, j'ai expérimenté plusieurs fois l'effet de l'addition de bore aux mélanges nutritifs destinés à la culture de la *Chara*, mais je me contenterai de rappeler que des borates ajoutés à l'un de mes mélanges ont eu une action heureuse sur le développement des rhizoïdes.

Dans d'autres cas, la dilution de borates dans les cultures à base d'eau de source a donné les résultats suivants:

TABLE V.

$Na_2B_4O_7 \cdot 10 aq$ concentration p‰	Rendement
0,00013	106,6
0,00033	100,0
0,0013	91,05

Remarque: La culture de contrôle sans borate a donné 100,0.

J'ignore l'action que pourrait avoir se facteur en concentrations encore plus faibles, mais en tous cas, *au titre de 0,00013% de  $Na_2B_4O_7 \cdot 10 aq$ , cette action est bienfaisante, pour cette plante.*

Donc, il est probable que la présence de ce sel, comme celle du sel de zinc ne peut qu'être favorable et profitable, dans la composition définitive de notre mélange.

#### Silicate:

L'action du silicate sur les végétaux a été souvent et diversement commentée.

D'après Lemmermann et Wiesmann,  $\text{SiO}_2$  a une action bienfaisante, car il facilite la solution de phosphates, peu solubles, ce qui est confirmé par Jessen et W. Lech, tandis que Thomas est d'avis contraire.

V. V. Butković, lui, obtient un accroissement du rendement, mais il ne l'explique pas par l'augmentation de la teneur en phosphates, mais par l'action des anions des silicates, dans »l'équilibre des membranes de Donann«.

Quand à Mengdehl H., il constate que la  $\text{Ca}^{++}$  pénètre plus facilement dans la cellule en présence de  $\text{SiO}_2$ .

C'est l'un des motifs pour lesquels j'ai décidé d'ajouter du silicate à la solution nutritive. Le second motif, a été de tâcher de faire rapprocher, au point de vue physico-chimique, le milieu nutritif artificiel, du milieu normal de la *Chara*, les eaux naturelles renfermant toujours plus ou moins de matières colloïdales ce que j'ai voulu obtenir, en ajoutant à une solution parfaitement cristalloïde une faible proportion de substances colloïdales.

Cette addition de  $\text{K}_2\text{SiO}_3$  a eu un heureux effet, en concentrations de 0,0014%, et 0,00013%, tant sur l'augmentation du poids de la matière sèche, que sur le développement des rhizoïdes, et enfin, sur l'apparence générale de la plante. Au contraire, les plantes des cultures de contrôle, privées de silicate, végétaient et ne tardaient pas à dépérir.

Plus tard je tentai un nouvel essai par addition à de l'eau de source, de ce sel à des titres divers, mais plus élevés que dans les expériences précédentes.

En voici le résultat: le poids de la récolte a été en raison inverse de la teneur en silicate de la solution donnée. *Il semble donc, que la concentration optimale de silicate, pour le bon développement de la Chara doive être inférieure à 0,0026% calculé comme  $\text{K}_2\text{SiO}_3$ .*

J'ai également étudié l'influence des sels de litiums, d'aluminium et d'iode sur la croissance de la *Chara*, à diverses faibles concentrations, mais la présence de ces sels ne m'a pas paru avoir un heureux effet sur la plante.

#### S u b l i m é :

Il ressort des essais de préparation de la *Chara* avec l' $\text{HgCl}_2$ , que la limite supérieure, non nuisible de la concentration d' $\text{HgCl}_2$  doit être 0,005% pour des bains d'une durée de 10 à 30 secondes.

Ces bains de sublimé, à faible concentration, ont eu pour conséquence la destruction des algues épiphytes qui, par la suite, n'ont pas reparu, mais par contre, ils ont agi d'une façon suffisamment toxique pour affaiblir la vitalité de la Chara qui finit par succomber à l'action pernicieuse des champignons.

$HgCl_2$  a une action plus funeste encore sur les cellules plus âgées, que sur les jeunes cellules des bourgeons qui continuent malgré tout à végéter.

L' $HgCl_2$  produit sur la plante un effet analogue à celui du  $Cu^{++}$ , comme le fait remarquer D. Stalberg.

### Facteurs physico-chimiques

Dans ce groupe, on pourrait faire entrer les silicates et les humates dont nous avons déjà parlé à cause de la forme colloïdale sous laquelle ils se présentent dans les solutions, et des conséquences qui en résultent. Nous passons maintenant au :

### Charbon activé

L'addition de ce produit a été faite, pour tâcher d'améliorer les résultats des cultures, suivant l'exemple de Zinzadzé, en tenant compte du pouvoir adsorbant du c. activé sur les substances toxiques.

Il a été démontré qu'à plus forte dose, 3 gr/l. par exemple, le charbon animal a une action nuisible sur la croissance de la Chara, mais si cette dose est réduite à 1.5 gr/l., elle agit déjà mieux, ex, 0,66 gr/l. provoquant une croissance des plantes en longueur, sans toutefois que la quantité de matière sèche en soit augmentée. Cette amélioration ne se produit d'ailleurs que pendant la première partie de la durée de la culture.

Cette action favorable du c. animalis et du c. tiliae, utilisés en faibles quantités peut s'expliquer par leur faculté d'adsorption des traces de cuivre, demeurées dans l'eau distillée (appareil de distillation) car N. Stalberg a décrit l'extrême sensibilité des Characae à la présence du  $Cu^{++}$ .

L'action nuisible de quantités plus fortes de c. tiliae et c. animalis est vraisemblablement une conséquence de l'adsorption intense de  $H^+$  qui détermine un recul de la réaction vers le côté alcalin, et c'est justement ce recul qui serait néfaste à la plante.

J'ai eu l'occasion d'observer que deux récipients contenant le même mélange nutritif, mais des pH différents, (conséquence du «support» dolomitique donné à la plante), donnent un meilleur rendement avec un pH plus bas.

La table ci-dessous nous montre que l'action du c. animalis sur pH, est plus énergique que celle du c. tiliae:

TABLE VI.

Nos. des récipients	Mélange renfermant du sable dolomitique	pH	Nos. des récipients	Mélange renfermant du sable siliceux	pH
2 b	sans carbon	8.90	2 a	sans carbon	8.72
5 b	2g/1 lit. c. tiliae	8.94	5 a	0.66 g/1 lit. c. tiliae	8.80
6 b	2g/1 lit. c. animalis	9.18	6 a	0.66 g/1 l. c. animalis	8.95

### Revue des mélanges nutritifs »normaux« des divers auteurs

Au cours de ces travaux, j'ai utilisé les mélanges ci-dessous qui se sont montrés tout à fait impropres à la culture de la Chara.

En voici l'énumération:

Mélanges de:

Detmer, Crone, Beyrinck, Artari, Pringsheim, Benecke, Knop, Molisch, Klebs, Sachs, Pfeffer, Bristol, Hansteen, Cranmer, Hutschinson, Mazé et Tollens.

Les raisons de leur insuccès peuvent être entre autres, les suivantes:

1<sup>o</sup> Une trop forte teneur en NO<sub>3</sub> (Detmer, Klebs, Benecke, Sachs, Knop et autres)

2<sup>o</sup> l'absence de Ca<sup>++</sup> (Artari et Pringsheim)

3<sup>o</sup> la présence de NH<sub>4</sub> (Beyrinck)

4<sup>o</sup> l'absence de fer (Detmer, Molisch et autres)

5<sup>o</sup> l'absence de CO<sub>3</sub> combiné (Knop, Molisch, Sachs et autres)

6<sup>o</sup> l'absence de Mn<sup>++</sup> dans tous les mélanges ci-dessus.

## Historique de mon mélange nutritif spécial pour la culture de la Chara

La composition de ce mélange a évolué au cours de mes travaux, de la façon reportée sur la table ci-dessous.

TABLE VII.

Nom du mélange	Crone	Combinaison I.	Variation I.		Variation ultérieure III.
	II.	III.	IV. et V.	VI. VII. et VIII.	IX.
essayé dans la série de mes expériences:					
KNO <sub>3</sub>	1,00	0,25	0,10	0,10	0,007
MgSO <sub>4</sub> . 7 aq	0,50	0,50	0,50	0,50	0,35
CaSO <sub>4</sub> . 2 aq	0,50	0,50	0,50	0,25	0,12
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	0,25	0,25	0,25	0,25	0,12
Fe <sub>3</sub> (PO) <sub>2</sub>	0,25	0,25	0,25	0,25	—
NaCl	—	0,10	0,10	0,10	0,05
KHCO <sub>3</sub>	—	0,25	0,25	0,25	0,12
CaCO <sub>3</sub>	—	—	—	—	0,23
Fe citrat	—	—	—	—	0,002
K <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	—	—	—	—	0,04
NaHCO <sub>3</sub>	—	—	—	—	0,10
MnCl <sub>2</sub> . 4 aq	—	—	—	—	0,04
H <sub>2</sub> O	1000	id.	id.	id.	id.

Pour conclure, je rappelle que les principaux points de repère au cours des modifications et de l'évolution de notre mélange nutritif ont été:

1<sup>o</sup> l'observation de réactions de la *Chara* aux changements apportés dans la composition du mélange nutritif.

2<sup>o</sup> la composition ionique connue de l'eau des conduites de Zagreb, que je consultais constamment, et à laquelle je m'efforçais de ramener le plus possible la composition de mes mélanges.

D'après les données fournies par la dixième série d'expériences, il faudrait encore vraisemblablement, ajouter à ce mélange du ZnCl<sub>2</sub> et du Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>, pour lui donner la composition suivante, définitive:

TABLE VIII.

$\text{KNO}_3$	0,007
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ aq}$	0,35
$\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{ aq}$	0,12
$\text{Ca}_3 (\text{PO}_4)_2$	0,12
$\text{NaCl}$	0,05
$\text{KHCO}_3$	0,12
$\text{CaCO}_3$	0,23
Fe citrate	0,002
$\text{K}_2 \text{SiO}_3$	0,04
$\text{NaHCO}_3$	0,1
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{ aq}$	0,04
$\text{ZnCl}_2$	0,0001
$\text{Na B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{ aq}$	0,0013
$\text{H}_2\text{O}$	1000,00



## LITTERATURE

Becker-Dillingen J.: Ernährung der landwirtschaftlichen Nutzpflanzen, Berlin 1934.

Cooks F.: The toxic action of copper on *Nitella*. Journ. Gen. Physiol. 9. 1926.

R. Collander i H. Bärlund: Permeabilitätsstudien an *Chara ceratophylla* II. Helsingfors 1933.

Fred E. B. i Waksman S. A.: Laboratory manual of general microbiology, New York 1928.

Hiltner E.: Wasserkultur und Vegetationsversuch iz Handbuch der Pflanzenernährung und Düngerlehre. F. Honcamp. I. Band. Pflanzenernährung, Berlin 1931.

Hoagland D. R., Hibbard P. L. i Davis A. R.: The influence of light, temperature and other conditions on the ability of *Nitella*. Journ. General Physiol. 10. 1926.

Honcamp F.: Handbuch der Pflanzenernährung und Düngerlehre I. i II. Bd. Berlin 1931.

Kufferath H.: La culture des algues. »Revue Algologique«. Sv. IV. 1928.

Lapicque L. i Kergomard Th.: Changement dans la reaction de l'eau douce sous l'action des plantes aquatiques. Bot. Zbl. 1924. Bd. 3. 103.

Lührig H.: Chem. Zeit. 38, 781. (1914), cit. W. Böttger, Qualitative Analyse 4—7 Auflage 1925, str. 287.

Lundegårdh H.: Die Nährstoffaufnahme der Pflanze, Jena 1932.

Mengdehl H.: Der Einfluss kolloider Kieselsäure auf die Salzaufnahme der Pflanzen, Leipzig 1931.

Mevius W.: Reaktion des Bodens und Pflanzenwachstum, Leipzig 1927.

Niklewski B. i Wojciechowski J.: The influence of humic compounds on the plant development. — Acta Societatis Botanicorum Poloniae. Vol. XV/2, 1938.

Nonweiler G.: Morphologische u. physiologische Untersuchungen an *Chara strigosa* A. Br. Dissertation. Zürich 1907.

Overton C. E.: Beiträge zur Histologie u. Physiologie der Characeen. — Botan. Zentral-Blatt. Sv. 44, 1890, str. 1—10 i 33—38.

Pekarek J.: Ein vergessenes Objekt für das Studium der Kern- und Zellteilungsvorgänge im Leben. — »Planta« 1932. 16, str. 288—800.

Pärschle K. (1): Del Bedeutung der Spurenelemente. — Ergebnisse der Biologie 1938. 7.

Pärschle K. (2): Mineralstoffwechsel. Iz Fortschritte der Botanik. — Sv. 7. 1938.

Pringsheim E. G. (1): Algenkultur. Abderhalden, Handbuch der biologischen Arbeiten, Abt. XI. Teil 2. str. 377.

Pringsheim E. G. (2): Ueber das Ca-Bedürfnis einiger Algen. Iz »Planta«, 2. sv. str. 554—568, 1926 Berlin.

Richter O.: Die Ernährung der Algen. — Monographien und Abhandlungen zur internationalen Revue der gesamten Hydrobiologie, Band 2, Leipzig 1911.

Snell K.: Untersuchungen über die Nahrungsaufnahme der Wasserpflanzen. »Flora« 98 Bd. 1908.

Spajić U.: Gajenje duvana, Knj. I. Kultura i sređivanje. Beograd 1927.

Stalberg N. (1): Studie über den Zellinhalt von *Nitella opaca*. — Bot. Notiser 1927. str. 305—322.

Stalberg N. (2): Die Reaktionen einiger Characeen für Kupfer, Zink und Blei in schwachen Dosen.

Stroede V. (1): Ökologie der Characeen. Dissertation, Berlin 1931.

Stroede W. (2): Ueber die Beziehungen der Characeen zu den chemischen Faktoren der Wohngewässer und des Schlammes. Arch. für Hydrobiologie 1933., Bot. Zentralblatt sv. 24 str. 291. 1934.

Vouk V.: Zur Biologie der Charophyten, Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie Bd. IV. Rom. 1929.

Vouk V. i Benzinger F.: Some preliminary experiments on Physiology of Charophyta. Acta botanica Instituti Botanici universitatis Zagrabiensis. Vol. IV. Zagreb 1929.

Zinzadzé Ch. R.: Recherches sur le nutrition artificielle des plantes cultivées. Paris.